

## بررسی اثر لاکتو باسیلوس کازئی بر کاهش میزان آفلا توکسین $M_1$ در ماست پروبیوتیک در طول مدت زمان ماندگاری آن

فائزه تجلی<sup>۱\*</sup>، مرضیه کته شمشیری<sup>۲</sup>، معصومه مهربان سنگ آتش<sup>۱</sup>

۱) گروه پزشکی مولکولی، جهاد دانشگاهی فراسان رضوی، مشهد، ایران

۲) گروه کیفیت و ایمنی مواد غذایی، جهاد دانشگاهی فراسان رضوی، مشهد، ایران

۳) گروه علوم و صنایع غذایی، مشهد، ایران

تاریخ پذیرش: ۹۵/۳/۱۱

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۰/۱۹

### چکیده

**مقدمه:** آفلا توکسین  $M_1$  متابولیتی از آفلا توکسین  $B_1$  می‌باشد که ممکن است در شیر حیواناتی که از غذای آلوده به آفلا توکسین  $B_1$  تغذیه کرده باشند، یافت شود. با در نظر گرفتن نقش شیر و فرآورده‌های آن در تغذیه انسان، توجه به جنبه‌های سلامت این ماده غذایی با ارزش، اجتناب ناپذیر می‌باشد. از طرفی آلودگی آن به آفلا توکسین  $M_1$  می‌تواند سلامت مصرف‌کنندگان را به خطر اندازد. لذا نیاز به استفاده از روش‌هایی به منظور حذف یا غیر فعال‌سازی آفلا توکسین  $M_1$  در شیر و محصولات لبنی احساس می‌شود. توکسین زدایی میکروبی یکی از روش‌های حذف آفلاتوکسین‌ها از جمله آفلا توکسین  $M_1$  محسوب می‌شود. در این تحقیق، به بررسی اثر باکتری لاکتو باسیلوس کازئی به منظور کاهش یا حذف آفلاتوکسین  $M_1$  در ماست در طول مدت نگه داری آن پرداخته شده است.

**مواد و روش‌ها:** لاکتو باسیلوس کازئی به عنوان باکتری آغازگر ماست پروبیوتیک، کشت داده شد. شیر بازسازی شده، در چهار سطح ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۵ و ۰/۷۵ نانوگرم در میلی لیتر، با آفلا توکسین  $M_1$  آلوده گردید. نمونه‌ها با لاکتو باسیلوس کازئی به عنوان باکتری آغازگر ماست پروبیوتیک تلقیح شدند. میزان باقیمانده آفلا توکسین  $M_1$  پس از سانتریفیوژ نمونه‌های ماست در روز اول، هفتم، چهاردهم و بیست و یکم توسط روش الیزا مورد ارزیابی قرار گرفت.

**یافته‌های پژوهش:** نتایج بیانگر این مطلب است که حضور باکتری لاکتو باسیلوس کازئی در کاهش سم مؤثر بود. همچنین مشخص گردید مقادیر مختلف آفلا توکسین  $M_1$  تأثیر معنی‌داری بر کاهش سم نمی‌گذارند.

**بحث و نتیجه‌گیری:** نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که استفاده از لاکتو باسیلوس کازئی می‌تواند به عنوان یک تکنیک در توکسین زدایی میکروبی غذاهای آلوده با آفلا توکسین  $M_1$  مورد ارزیابی قرار گیرد.

**واژه‌های کلیدی:** آفلا توکسین  $M_1$ ، لاکتو باسیلوس کازئی، توکسین زدایی میکروبی، ماست پروبیوتیک

\* نویسنده مسئول: گروه پزشکی مولکولی، جهاد دانشگاهی خراسان رضوی، مشهد، ایران

Email: tajalli@acecr.ac.ir

Copyright © 2017 Journal of Ilam University of Medical Science. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution international 4.0 International License (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>) which permits copy and redistribute the material, in any medium or format, provided the original work is properly cited.

## مقدمه

مهم ترین گروه برای انسان خصوصا اقشار آسیب پذیر نظیر کودکان، بیماران و سالمندان محسوب می شود، بالا بودن مقدار سم آن از حد استاندارد، برای این مصرف کنندگان بسیار مخاطره آمیز و در مواردی بسیار زیان بار و غیر قابل جبران است. با افزایش دانش و آگاهی از این موضوع که آفلا توکسین ها می توانند به طور بالقوه برای سلامت انسان و دام خطر آفرین محسوب شوند، تلاش برای حذف کامل یا کاهش میزان آفلاتوکسین در مواد غذایی مضاعف گردیده است.

در زمینه تقلیل سم آفلا توکسین  $M_1$  نیز تاکنون روش های متفاوتی به کار رفته است. نتایج تحقیقات نشان داده است که یکی از مه مترین شیوه ها در کاهش بروز اختلالات مربوط به سم یا جلوگیری از ورود آن، استفاده از باکتری های خانواده اسید لاکتیک می باشد (۱۱،۱۲). باکتری های اسید لاکتیک دارای یک ماتریکس پیتیدوگلیکان است که ترکیب عمده ساختمانی دیواره سلولی است و ترکیبات دیگر آن اسید تیکوئیک، اسید لیپو تیکوئیک، لایه های پروتئینی و پلی ساکاریدهای خنثی است. این ترکیبات عملکردهای مختلفی دارند. اسیدتیکوئیک که بیش از ۵۰ درصد وزن کل دیواره سلولی را شامل می شود و دارای خاصیت هیدروفوبی بالایی می باشد، در مکانیسم جذب سطحی توکسین و اتصال به آن نقش عمده ای دارد (۱۳).

ماست از جمله فراورده های تخمیری لبنی است که به کمک باکتری های خانواده اسید لاکتیک تهیه می شود. ماست پروبیوتیک حاوی باکتری های مفیدی است که پس از مصرف در ناحیه روده ساکن می شوند و اثرات معجزه آسایی در سلامت انسان بر جای می گذارند. مهم ترین مکانیسم هایی که این باکتری ها به وسیله آن می توانند موجب ارتقای سلامت انسان شوند شامل تولید اسید های آلی، پر اکسید ها و باکتریوسید ها و رقابت با باکتری های مضر و بیماری زای روده ای برای تصاحب جایگاه های اتصال روی موکوس می باشد. لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، لاکتوباسیلوس کازئی و بیفیدو باکتریوم بیفیدوم از جمله باکتری های آغازگر

مایکو توکسین ها به عنوان یکی از بارز ترین آلوده کننده های مواد غذایی که بهداشت عمومی، امنیت غذایی و اقتصاد ملی بسیاری از کشور ها به ویژه کشورهای در حال توسعه را تحت تاثیر قرار می دهند، مورد بررسی قرار می گیرند. در میان مایکو توکسین ها، آفلا توکسین ها مهم ترین آن ها هستند. آفلا توکسین ها ترکیبات سمی هستند که به عنوان متابولیت های ثانویه به وسیله قارچ هایی چون *آسپرژیلوس فلاووس* و *آسپرژیلوس پارازیتیکوس* به دنبال رشد روی اقلام غذایی تولید می شوند (۱).

آفلا توکسین ها معمولا در بدن دام سبب مخاطرات جدی نشده؛ ولی پس از ورود به شیر می توانند در انسان (در دراز مدت) سبب بروز بیماری های خطرناکی نظیر آسیب های حاد و مزمن کبدی، سرطان زایی، ایجاد ناهنجاری های جنینی، کاهش بیوستتز پروتئین ها و چربی ها، ایجاد نقص در سیستم ایمنی و ... شوند (۱،۲،۳،۴،۵).

از میان ۱۸ نوع مختلف آفلا توکسین شناخته شده، آفلا توکسین های  $G_1$ ،  $B_1$ ،  $B_2$  و  $G_2$  توسط آژانس های بین المللی تحقیق روی سرطان در گروه A عوامل سرطان زا قرار گرفته اند. در این میان سمیت و سرطان زایی آفلا توکسین  $B_1$  بیشتر از انواع دیگر گزارش شده است.

آفلا توکسین  $M_1$  متابولیت هیدروکسیله شده آفلا توکسین  $B_1$  است که در شیر حیوانات شیرده که از خوراک آلوده به آفلا توکسین  $B_1$  مصرف کرده اند وجود دارد (۶،۷،۸). ارتباط مستقیمی بین حضور آفلا توکسین  $B_1$  در خوراک دام و آفلا توکسین  $M_1$  در شیر دام وجود دارد. معمولا حدود ۱ تا ۳ درصد آفلا توکسین  $B_1$  خورده شده توسط دام به آفلا توکسین  $M_1$  تبدیل می شود. این میزان از حیوانی به حیوان دیگر، روز به روز و از یک شیر دوشی به شیر دوشی دیگر متفاوت می باشد (۹،۱۰) با وجود آن که سمیت و سرطان زایی این توکسین کمتر از آفلا توکسین  $B_1$  است، اما باید حضور آن در شیر و فرآورده های لبنی جدا کنترل شود. زیرا با توجه به آن که این گروه از مواد غذایی به عنوان

متداول در تهیه ماست پروبیوتیک می‌باشند (۱۴،۱۵،۱۶).

در این تحقیق سعی بر آن است که اثر لاکتو باسیلوس کازئی بر میزان کاهش سمّ آفلا توکسین در ماست پروبیوتیکی که از شیر آلوده به آفلا توکسین  $M_1$  تهیه می‌گردد، مورد مطالعه قرار گیرد. به این ترتیب که ابتدا شیر تهیه شده، با غلظت‌های مشخص و از پیش تعیین شده آفلا توکسین  $M_1$  به صورت دستی، آلوده شده و پس از تهیه ماست با اضافه کردن لاکتو باسیلوس کازئی، با گذشت زمان، میزان کاهش سمّ مشخص می‌شود.

### مواد و روش‌ها

۱- تهیه محلول‌های آفلا توکسین  $M_1$

آفلا توکسین  $M_1$  با غلظت ۱۰۰ نانوگرم در میلی لیتر از شرکت کیمیا گران شیمی صنعت خریداری شد و محلول‌های آفلا توکسین  $M_1$  با غلظت‌های ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۵ و ۰/۷۵ نانوگرم در میلی لیتر تهیه شد (۱۷).

۲- تهیه کشت آغازگر

لاکتو باسیلوس کازئی (*L. casei*) به عنوان باکتری آغازگر ماست پروبیوتیک از شرکت کریستن هانسن دانمارک خریداری شد. و در محیط کشت برات MRS در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت کشت داده شد. میزان رشد باکتری با استفاده از روش شمارش پلیت استاندارد به کمک محیط کشت آگار MRS محاسبه گردید. هنگامی که تعداد باکتری‌ها به حدود  $10^{10}$  رسید، محیط کشت مایع در  $g$  ۳۵۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شده و پلیت باکتریایی به دست آمده دوبار با نمک بافر فسفات (۰/۰۱ مول فسفات، ۰/۱۵ مول کلرید سدیم در  $pH=7/3$ ) شستشو داده شد (۱۸،۱۹).

۳- آلوده‌سازی شیر بازسازی شده با آفلاتوکسین  $M_1$ ، تهیه ماست و اندازه‌گیری میزان توکسین باقیمانده شیر بازسازی شده حاوی ۱۲ درصد ماده جامد بدون چربی از پودر شیر پس‌چرخ (skim milk) تهیه شد. بخشی از آن با آفلا توکسین  $M_1$  در چهار سطح ۰/۰۵، ۰/۱، ۰/۵ و ۰/۷۵ نانوگرم در میلی لیتر آلوده گردید و

قسمتی نیز به عنوان نمونه کنترل در نظر گرفته شد. پس از آلوده‌سازی شیر با غلظت‌های مختلف آفلاتوکسین  $M_1$ ، نمونه‌ها ابتدا در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه پاستوریزه شد و سپس تا دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد سرد گردید. تلقیح نمونه‌ها با لاکتو باسیلوس کازئی به عنوان باکتری آغازگر ماست پروبیوتیک (به میزان  $10^{10}$  cfu/ml) انجام شد (۱۲،۲۰).

پس از همزدن و یکنواخت شدن مایه کشت، نمونه‌ها در ظروف استریل تقسیم شده و به گرم‌خانه منتقل گردید. پس از رسیدن  $pH$  نمونه‌ها به ۴/۵، نمونه‌ها به دمای ۴ درجه سانتی‌گراد منتقل و به مدت ۳ هفته در این دما نگه‌داری شد (۱۲). به منظور بررسی میزان آفلا توکسین باقیمانده در روز اول، هفتم، چهاردهم و بیست و یکم، نمونه‌های ماست سانتریفوژ شده و میزان سم در سوپرناتانت حاصل توسط روش الایزی رقابتی مستقیم مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۱،۱۲).

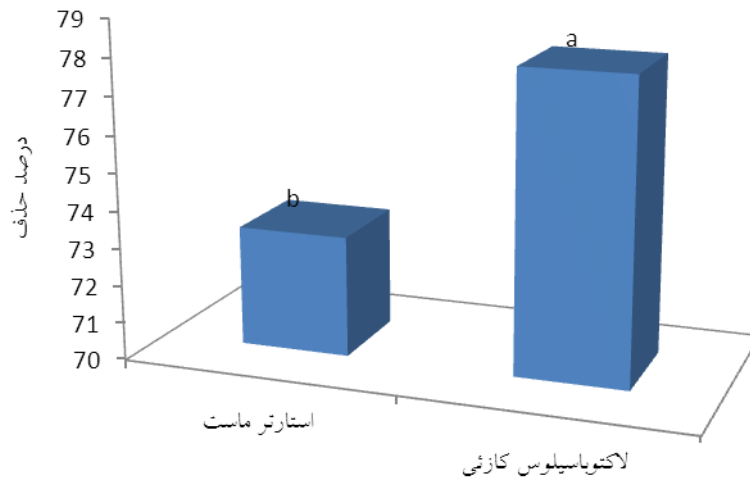
۴- آنالیز آماری

آنالیز داده‌ها براساس طرح پایه کاملاً تصادفی در قالب فاکتوریل انجام شد. فاکتورهای مورد بررسی شامل حضور یا عدم حضور باکتری، غلظت آفلاتوکسین (در چهار سطح)، زمان نگهداری (در چهار سطح) بود. آزمایشات در دو تکرار انجام شد. میانگین نتایج با نرم افزار آماری SPSS و بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت (۲۱، ۱۷، ۱۳). رسم نمودارها با نرم افزار کامپیوتری Excel انجام شد.

### یافته‌های پژوهش

۱- اثر باکتری در کاهش سمّ

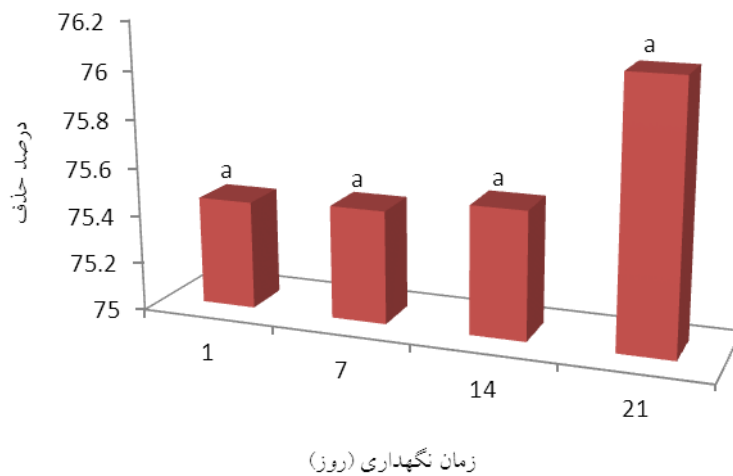
نتایج نمودار شماره ۱ نشان می‌دهد که حضور باکتری لاکتو باسیلوس کازئی (*L. casei* 431<sup>®</sup>) در کاهش سم آفلاتوکسین موثر بود. به گونه‌ای که در حضور باکتری درصد حذف آفلاتوکسین ۷۸/۰۳۲ درصد و در غیاب باکتری ۷۳/۲۳ درصد به دست آمد.



نمودار شماره ۱- اثر باکتری لاکتوباسیلوس کازئی در کاهش سم

ویک روز (۷۶/۱ درصد) میزان حذف تا حدی افزایش یافت اما مقدار آن جزئی بوده و اختلاف معنی داری مشاهده نشد.

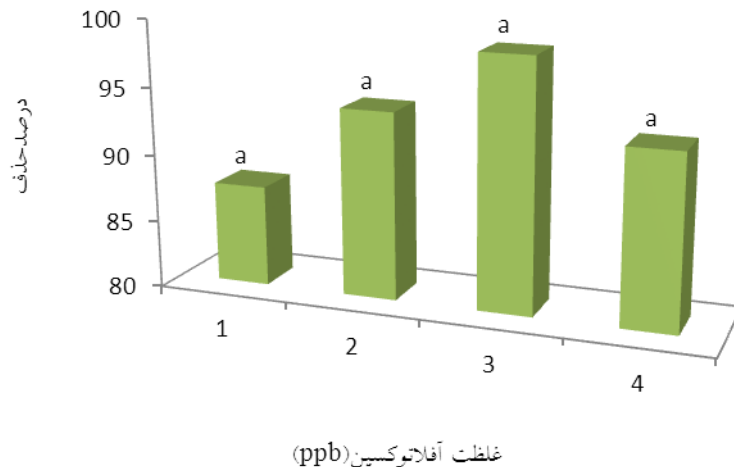
۲- اثر زمان انکوباسیون در کاهش سم همان طور که در نمودار شماره ۲ مشاهده می‌شود با افزایش زمان نگه داری از یک (۷۵/۵ درصد) تا بیست



نمودار شماره ۲- اثر زمان ماندگاری در کاهش سم

۰/۵ بیشترین درصد حذف (۹۸/۵۷ درصد) به دست آمد، اما با افزایش غلظت تا ۰/۷۵ ppb درصد حذف از نظر عددی کاهش نشان داد و مقدار آن (۹۲/۸۵ درصد) بود (نمودار شماره ۳).

۳- اثر غلظت آفلاتوکسین در کاهش سم با توجه به نتایج آنالیز واریانس، با افزایش غلظت سم، اختلاف معنی داری بر درصد حذف آفلاتوکسین مشاهده نشد ( $p < 0.05$ ). به طوری که در غلظت ppb



نمودار شماره ۳: اثر غلظت آفلا توکسین در کاهش سم

### بحث و نتیجه گیری

همان گونه که در شکل ۱ مشاهده شد باکتری لاکتو باسیلوس کازئی در کاهش سم آفلا توکسین موثر بود. پیریدز و همکاران نیز در تحقیقات خود نشان دادند که سه گونه باکتری پروبیوتیک در دامنه ۵۰/۷-۱۸/۱ درصد، توانایی اتصال به آفاتوکسین  $M_1$  دارند (۲۰). کابک و وار (۲۰۰۴) توانایی اتصال انواع مختلف باکتری های پروبیوتیک به آفلا توکسین  $M_1$  در نمک بافر فسفات را ۲۵/۷-۳۲/۵ درصد و در شیر پس چرخ ۲۱/۲-۲۹/۳ درصد تعیین نمودند (۲۲).

در مورد اثر زمان انکوباسیون در کاهش سم، نتایج گویای آن است که زمان ماندگاری اختلاف معنی داری در کاهش سم نداشت. ال-نظامی و همکاران نشان دادند کاهش آفلا توکسین  $B_1$  در حضور لاکتو باسیلوس رامنوسوس گونه GG در بافت روده در مدت ۶۰ دقیقه، ۷۴ درصد است (۲۳). آن ها هم چنین (۱۹۹۸) عنوان نمودند کشت ۲۴ ساعت لاکتو باسیلوس رامنوسوس گونه LC-705 قادر به جذب ۸۰ درصد آفلا توکسین  $B_1$  می باشد (۱۷). ال خوری و همکاران مشخص نمودند توانایی باند شدن لاکتو باسیلوس بولگاریکوس به آفاتوکسین  $M_1$  بعد از ۲ ساعت ۳۸/۷ درصد و در مورد استرپتوکوکوس ترموفیلوس ۱۹/۸ درصد می باشد، در حالیکه بعد از ۱۴ ساعت توانایی اتصال لاکتو

باسیلوس بولگاریکوس به آفاتوکسین  $M_1$ ، ۸۷/۶ درصد و در مورد استرپتوکوکوس ترموفیلوس تا ۷۰ درصد افزایش می یابد (۲۴).

همان گونه که در شکل ۳ مشاهده شد، غلظت آفلا توکسین نیز اثری بر کاهش سم نداشت. مطالعات ال-نظامی و همکاران نشان داد مقدار آفلا توکسین  $B_1$  حذف شده با افزایش غلظت سم، افزایش پیدا کرد، اما درصد حذف تفاوت عمده ای نداشت (۱۷).

در نهایت، این تحقیق به هدف بررسی اثر باکتری لاکتو باسیلوس کازئی در کاهش میزان سم آفلا توکسین  $M_1$  در ماست پروبیوتیک انجام شد. یافته های حاصل از این تحقیق نشان داد هرچند، هم باکتری پروبیوتیک مورد آزمون و هم آغازگرهای معمولی ماست قادر به جذب سم می باشند، توانایی باکتری های پروبیوتیک در جذب مقادیر بالای سم در مقایسه با آغازگر های ماست به لحاظ آماری معنی دار می باشد، بنابراین حضور باکتری لاکتو باسیلوس کازئی در کاهش سم آفاتوکسین مؤثر بود. همچنین نتایج نشان داد که قابلیت باکتری ها در کاهش میزان سم در نمونه های با مقادیر پایین سم بسیار بیشتر است. زمان نگه داری و غلظت آفلا توکسین نیز در حذف سم تأثیر مثبت داشت اما در زمان های مختلف ماندگاری و غلظت های مختلف آفلا توکسین اختلاف معنی داری مشاهده نشد. در مجموع می توان نتیجه گرفت که استفاده از باکتری لاکتو باسیلوس کازئی *L. casei*

آغازگر های ماست می‌باشند، سبب می‌گردد که درصد کمتری از سم در بدن جذب گردیده و به ویژه در زمانی که شیر با مقادیر پایینی از سم آلوده است، بیشترین میزان آن توسط این باکتری ها جذب شده و همراه با باکتری از بدن دفع گردد. بدین جهت مصرف فراورده های تخمیری لبنی توصیه می‌شود.

(431®) در حذف آفلاتوکسین M<sub>1</sub> در ماست پروبیوتیک مؤثر بود.

بر اساس نتیجه حاصل و با توجه به آن که بر اساس آمار و گزارشات موجود، شیر تولیدی در اغلب نقاط کشور آلوده به سم آفلا توکسین است، مصرف محصولات تخمیری شیر که حاوی باکتری هایی نظیر

## References

- Ersali AA, FahaoddinBeigi F, Ghasemi R. [Aflatoxin transfer from feed to raw and pasteurized milk in Shiraz and its town]. J Shahid Sadoughi Uni Med Sci 2009; 7:175-83. (Persian)
- Fallah AA, Barani A, Nasiri Z. Aflatoxin M<sub>1</sub> in raw milk in Qazvin Province Iran a seasonal study. Food Addit Contam Part B Surveill 2015;8:195-8.
- Rohani FG, Aminae MM, Kianfar M. Survey of aflatoxin M<sub>1</sub> in cow's milk for human consumption in Kerman Province of Iran. Food Addit Contam Part B Surveill 2011;4:191-4.
- Bakirci I. A study on the occurrence of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk and milk products produced in Van province of Turkey. Food Control 2001; 12: 47-51.
- Elgerbi AM, Aidoo KE, Candlish AA, Tester RF. Occurrence of aflatoxin M<sub>1</sub> in randomly selected North African milk and cheese sample. Food Addit Contam 2004; 21: 592-7.
- Mohammed S, Munissi JJ, Nyandoro SS. Aflatoxin M<sub>1</sub> in raw milk and aflatoxin B<sub>1</sub> in feed from household cows in Singida, Tanzania. Food Addit Contam Part B Surveill 2016;9:85-90.
- Sefidgar SA, Azizi G, Khosravi AR, Roudbar-Mohammadi S. Presence of Aflatoxin M<sub>1</sub> in raw milk at cattle farms in Babol Iran. Pak J Biol Sci 2008;11:484-6.
- Rahimi E, Bonyadian M, Rafei M, Kazemeini HR. Occurrence of aflatoxin M<sub>1</sub> in raw milk of five dairy species in Ahvaz Iran. Food Chem Toxicol 2010 48:129-31.
- Kouhian K, Kazemi MH, Akbari M. [Evaluation of aflatoxin B<sub>1</sub> and M<sub>1</sub> amounts in a number of the available food in grocery stores of Army units in Tehran in 2011]. Nurs Phys With War 2011; 14: 12-14. (Persian)
- Battacone G, Nudda A, Palomba M, Pascale M, Nicolussi P, Pulina G. Transfer of aflatoxin B<sub>1</sub> from feed to milk and from milk to curd and whey in dairy sheep fed artificially contaminated concentrates. Dair Sci 2005; 88: 3063-9.
- Phillips TD, Bashir Sarr A, Grant PG. Selective chemisorption and detoxification of aflatoxins by phyllosilicate clay. Natural Toxin 1995; 3:204-13.
- Sarimehmetoglu B, Kuplulu O. Binding ability of aflatoxin M<sub>1</sub> to yoghurt bacteria. Ankara Univ Vet Fak Dreg 2004; 51: 195-8.
- Shetty PH, Jespersen L. Saccharomyces cervisiae and lactic acid bacteria as potential mycotoxin decontaminating. Food Sci Technol 2006; 17:48-55.
- Carvalholima K, Kruger MF, Behrens J, Destro MT, Landgraf M, Melofranco BDG. Evaluation of culture media for enumeration of Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus casei and Bifidobacterium animalis in the presence of Lactobacillus delbrueckii subsp bulgaricus and Streptococcus thermophiles. Food Sci Technolo 2009; 42: 491-5.
- Mishra V, Prasad DN. Application of in vitro methods for selection of Lactobacillus casei strains as potential probiotics. Int J Food Microbiol 2005; 103:109-15.
- Tharmaraj N, Shah NP. Selective enumeration of L. delbrueckii ssp bulgaricus, Streptococcus thermophilus Lactobacillus acidophilus Bifidobacteria Lactobacillus casei Lactobacillus rhamnosus and propionic bacteria. J Dair Sc 2003; 86: 2288-96.
- Elnezami H, Kankaanpaa P, Salminen S, Ahokas J. Ability of dairy strains of lactic acid bacteria to bind a common food carcinogen aflatoxin B<sub>1</sub>. Food Chem Toxicol 1998; 36: 321-6.

18. Theunissen J, Britz TJ, Torriani S, Witthuhn RC. Identification of probiotic microorganisms in South African products using PCR-based DGGE analysis. *Int J Food Microbiol* 2005 Jan 15;98:11-21.
19. Holzapfel WH, Haberer P, Geisen R, Bjorkroth J, Schillinger U. Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *Am J Clin Nutr* 2001;73:365S-373S.
20. Pierides M, Elnezami H, Peltonen K, Salminen S, Ahokas J. Ability of dairy strains of lactic acid bacteria to bind aflatoxin M1 in a food model. *J Food Protec* 2000; 63: 645-650.
21. Masoero F, Gallo A, Diaz D, Piva G, Moschini M. Effect of the procedure of inclusion of a sequestering agent in the total mixed ration on proportional aflatoxin M1 excretion into milk of lactating dairy cows. *Anim Feed Sci Technol* 2009; 150: 34-45.
22. Kabak B, Var I. Binding of aflatoxin M1 by *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains. *Milchwissenschaft* 2004; 59: 301-303.
23. Elnezami H, Mykanen H, Kankaanpaa P, Salminen S, Ahokas J. Ability of *Lactobacillus* and *Propionic bacterium* strains to remove aflatoxin B1 from the chicken duodenum. *J Food Prot* 2000; 63: 549-52.
24. Elkhoury A, Atoui A, Yaghi J. Analysis of aflatoxin M1 in milk and yogurt and AFM1 reduction by lactic acid bacteria used in Lebanese industry. *Food Control* 2011; 22: 1695-9.

## Evaluation of *Lactobacillus casei* Effect on Reduction of Aflatoxin M<sub>1</sub> amount in Probiotic Yogurt during Its Shelf Life

Tajalli F<sup>1,2\*</sup>, Katehshamshiri M<sup>3</sup>, Mehrabansangatash M<sup>1, 2</sup>

(Received: January 9, 2016 Accepted: May 31, 2016)

### Abstract

**Introduction:** Aflatoxin M<sub>1</sub> which is one of the aflatoxin B<sub>1</sub> metabolites may be in milk of animals via which they have been fed the contaminated feed. According to the important role of milk and dairy products in human nutrition, it is necessary to consider the quality and safety aspects of this worthy food. On the other hand, its contamination by aflatoxin M<sub>1</sub> is a threat for the consumers' health; therefore, to use the procedures to remove or non-activation of aflatoxin M<sub>1</sub> in milk and dairy products is required. Microbial detoxification is one of the removal methods of aflatoxins, such as, aflatoxin M<sub>1</sub>. In this research, the effect of *Lactobacillus casei* to reduce or eliminate aflatoxin M<sub>1</sub> in yogurt during its shelf life has been detected. *Lactobacillus casei* as probiotic yogurt starter bacteria was cultivated.

**Materials & methods:** Modified milk was infected by aflatoxin M<sub>1</sub> in four levels of 0.05, 0.1, 0.5 and 0.75 ppb. The samples

were inoculated by *Lactobacillus casei* as probiotic yogurt starter bacteria. The amounts of residual aflatoxin M<sub>1</sub> were evaluated after centrifuging the samples in the first, seventh, fourteenth and twenty-first days by ELISA.

**Findings:** The results of this research indicate that the presence of *Lactobacillus casei* was effective on reducing toxin. It was also found the various amounts of aflatoxin M<sub>1</sub> don't affect significantly on descending of toxin.

**Discussion & conclusions:** These findings imply that *Lactobacillus casei* using can be as one of the removal techniques among the microbial detoxification methods of the contaminated food by aflatoxin M<sub>1</sub>.

**Keywords:** Aflatoxin M<sub>1</sub>, *Lactobacillus casei*, Microbial detoxification, Probiotic yogurt

1. Dept of Molecular Medicine, Academic Centre for Education, Culture and Research, Khorasan Razavi Branch, Mashad, Iran

2. Dept of Food Quality and Safety, Academic Centre for Education, Culture and Research, Khorasan Razavi Branch, Mashad, Iran

3. Dept of Food Science and Technology, Mashad, Iran

\* Corresponding author Email: tajalli@acecr.ac.ir